

⑫ 公開特許公報(A)

昭61-196154

⑪ Int.Cl.⁴G 01 N 27/26
21/59
33/487

識別記号

庁内整理番号

G-7363-2G
D-7458-2G
8305-2G

⑬ 公開 昭和61年(1986)8月30日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑭ 発明の名称 電気泳動装置による総蛋白値の定量方法

⑮ 特 願 昭60-36606

⑯ 出 願 昭60(1985)2月27日

⑰ 発 明 者 山 本 秀 彦 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリnbas光学工業株式会社内

⑱ 出 願 人 オリnbas光学工業株式会社 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号

⑲ 代 理 人 弁理士 杉村 暁秀 外1名

明 細 書

1 発明の名称 電気泳動装置による総蛋白値の定量方法

2. 特許請求の範囲

- 1 総蛋白値が既知の標準試料を泳動させてその泳動像の濃度積分値を求め、この標準試料の総蛋白値および濃度積分値と、総蛋白値が未知の検体の泳動像の濃度積分値とに基づいて該検体の総蛋白値を定量することを特徴とする電気泳動装置による総蛋白値の定量方法。

3. 発明の詳細な説明

(技術分野)

本発明は、電気泳動装置による総蛋白値の定量方法に関するものである。

(従来技術)

電気泳動装置においては、最終的測定データとして、従来、アルブミン(Alb)、 α_1 -グロブリン(α_1 -G)、 α_2 -グロブリン(α_2 -G)、 β -グロブリン(β -G)、 γ -グロブリン(γ -G)等の各分画を要す泳動パターン、各分画%および

A/G値(アルブミン対グロブリン比)を記録していたが、最近では各分画%に示される相対的な変化に加えて絶対量としての変化が重視されてきたため、総蛋白値を他の生化学分析装置により測定し、これを予じめ入力して各分画%に乗じることにより各分画の絶対量としての蛋白濃度をも記録するようにしている。

しかし、各検体の総蛋白値を他の生化学分析装置によつて測定してそのデータを電気泳動装置に入力することは、操作が面倒であると共に、生化学分析装置においてはその分他の項目の分析ができなくなる不具合がある。

(発明の目的)

本発明の目的は、上述した不具合を解決し、電気泳動装置によつて総蛋白値を定量する新規な方法を提供しようとするものである。

(発明の概要)

本発明の電気泳動装置による総蛋白値の定量方法は、総蛋白値が既知の標準試料を泳動させてその泳動像の濃度積分値を求め、この標準試料の総

蛋白値および濃度積分値と、総蛋白値が未知の検体の泳動像の濃度積分値とに基づいて該検体の総蛋白値を定量することを特徴とするものである。

(実施例)

通常、電気泳動装置においては、血清等の多数の検体(例えば80検体)をアブリケータによりセルロースアセテート膜等の支持体に同時に塗布し、泳動槽において所定時間泳動させてから、染色槽において染色・脱色・乾燥処理を行なった後デンシトメータに搬送し、ここで各検体の電気泳動像を順次測光するようにしている。

第1図は本発明を実施する電気泳動装置におけるデンシトメータの一例の要部の構成を示すものである。本例では、染色槽において染色・脱色・乾燥処理された支持体1を、送りローラ2によつてデカリン8を有する測光部4にピッチ送りし、ここで測光装置5によつてピッチ送りに同期して測光した後、排紙ローラ6により排出する。測光装置5は支持体1の搬送経路を挟んで一方の側に光源5aを、他方の側に第2図に示すように電気泳動

像7を有する支持体1の搬送方向aと直交する方向にCOD、ホトダイオード等の受光素子を配列して成る一次元アレイセンサ5bを配置して構成する。

本例では、1つの支持体に80検体を塗布するが、そのうちの1つの検体、本例では支持体の搬送方向にみて先頭の第1検体として総蛋白値が既知の標準試料を塗布し、他の第2~80検体として総蛋白値が未知の検体を塗布する。このようにして、デンシトメータにおいて支持体をピッチ送りしながら測光して、各電気泳動像全体の濃度の積分値を求める。このため、第8図に示すように、一次元アレイセンサ5aの各素子の出力を支持体のピッチ送りに同期してサンプルホールド回路11によりサンプリングし、そのサンプリング出力を対数増幅器12により対数増幅して吸光度に変換した後、A/D変換器18でデジタル信号に変換してCPU14の制御の下にメモリ15に格納する。なお、第1検体としての標準試料の総蛋白値(TP₁)は、予じめキーボード16によりCRT

17に表示しながらメモリ15に格納しておく。

このように、支持体をピッチ送りしながら測光すると、メモリ15には第4図に示すような三次元的なデータが格納される。次に、メモリ15に格納されたデータを濃度によつて第5図に示すように各検体に区分し、第1検体すなわち標準試料の濃度積分値(D₁)および他の第N検体のそれぞれの濃度積分値(DN)を求める。

ここで、各検体の濃度積分値Dは、支持体が1ピッチずつ送られる毎に測光されたデータの像全体に対する和であり、像全体のi番目のピッチにおけるj番目の素子のデータをd_{ij}とすると、

$$D = \sum_{ij} d_{ij}$$

で表わされる。上式において、d_iは通常、ALb、α₁-G、α₂-G、β-G、γ-Gに分画するが、染色液による染色のされ方は各蛋白によつて一般に異なり、例えば染色液としてボンソー8Rを用いた場合にはALbの方がγ-Gに比べ濃く染色される。そこで、本例では各蛋白による染色度の差異

を補正するために、染色液および測光波長に応じた第1表に示すような染色補正係数k_{ALb}、

k_{α₁-G}、k_{α₂-G}、k_{β-G}、k_{γ-G}を、予じめキーボード16からメモリ15に入力しておくと共に、メモリ15に取込んだ測光データから、第6図に示すように各ピッチ毎に各分面の濃度積分値

d_{ALb}、d_{α₁-G}、d_{α₂-G}、d_{β-G}、d_{γ-G}を求め、像全体の濃度積分値Dを、

$$D = \sum_i (k_{ALb} d_{ALb} + k_{\alpha_1-G} d_{\alpha_1-G} + k_{\alpha_2-G} d_{\alpha_2-G} + k_{\beta-G} d_{\beta-G} + k_{\gamma-G} d_{\gamma-G})$$

により求める。なお、第1表は染色液がボンソー8Rで、測光波長が505nmのときの染色補正係数を示す。

第1表

k _{ALb}	k _{α₁-G}	k _{α₂-G}	k _{β-G}	k _{γ-G}
0.480	0.428	0.426	0.428	0.420

第2表

K_1	K_2	K_3	K_{80}
1.02	1.05	0.98	0.87

また、あるビッチあるいは検体によつては5分面しない場合がある。このような場合には、第7図に示すように、あるスレッシュホールドレベル σ を越える先頭から最終データまでの距離すなわち泳動展開長 L を求め、その L と一般的な5分面の距離との比に基いて当該ビッチにおけるデータを5分面して染色補正係数を適用する。

一方、アプリケーションにおいて支持体に塗布される検体の塗布量は塗布先によつてバラツキが生じると共に、染色槽においても各検体の位置等によつて染色度にバラツキが生じる。本実施例においては、このようなバラツキをも補正するために予め80検体として総蛋白値が既知の標準試料を用いて1回あるいは複数回分析し、その各々の像全体の濃度積分値と総蛋白値とから第2表に示すような検体間のバラツキを補正する補正係数 K_N （複数回の分析の場合にはその平均値）を求め、そのデータをメモリ15に格納しておく。

なお、第2表に示す補正係数 K_N はキーボード16によりCRT17に表示しながらメモリ15に格納してもよいし、補正係数 K_N を求めるための分析であることを指示することにより、CPU14によつて自動的に補正係数 K_N を求めてメモリ15に格納するようにしてもよい。

以上により、メモリ15に格納されたデータに基いて、総蛋白値が未知の第2～80検体の各々の総蛋白値 TP_N を以下の式に基いて演算し、その結果をフロッピーディスク18に記憶する。

$$TP_N = \frac{D_N \cdot K_1}{D_1 \cdot K_N} TP_1$$

また、CPU14はメモリ15に格納された第2～80検体の各々のデータから所要のデータ、例えば各泳動像の中心位置におけるデータを抽出し、

その抽出したデータに基いて各分面%、 A/G を演算してフロッピーディスク18に記憶すると共に、泳動パターンを記録するためのデータをオートスパン処理により正規化して同様にフロッピーディスク18に記憶する。

このようにして、フロッピーディスク18に格納された第2～80検体の各々についての総蛋白値、各分面%、 A/G 、泳動パターンのデータは、CPU14の制御の下にプリンタ19において蛋白分面報告書の所定の欄に記録する。この際、各検体についてその総蛋白値が求められているから、記録に先立つてCPU14において総蛋白値を各分面%に乗じて各分面の蛋白の絶対値を求め、これを一緒に記録する。

以上のように、本実施例では支持体に塗布される多数の検体の一つを総蛋白値が既知の標準試料とし、総蛋白値が未知の検体の泳動像全体の濃度積分値と、標準試料の総蛋白値およびその泳動像全体の濃度積分値と、支持体に対する検体塗布量や塗布位置におけるメカニカルなバラツキの補正

係数とに基いて未知検体の総蛋白値を求めるものであるから、各支持体についてその各々の検体の総蛋白値を常に高精度で定量することができる。

なお、本発明は上述した例にのみ限定されるものではなく、幾多の変更または変形が可能である。例えば、上述した例では一次元アレイセンサを用いて測光データを取込むようにしたが、従来のように1つの受光素子を用いこれを光源と一体にビッチ送りに同期して移動させることにより、泳動像全体を走査するようにしてもよい。また、二次元アレイセンサを用いてこれに泳動像全体の像を結像させることにより、泳動像全体の測光データを得るようにしてもよい。このようにすれば、一次元アレイセンサを用いる場合よりも、デンストメータ内での支持体の移送制御が簡単になる利点がある。更に、取込んだデータに基いて塗布不良等による像不良を検出し、像不良が検出された検体については総蛋白値の算出を行なわないようにすることもできる。この場合の像不良は、例えば支持体の搬送方向と直交する方向での泳動像の各

走査位置でのデータの最大値、平均値または総和を求め、その値の支持体の搬送方向でのパターンのエッジからエッジまでの長さや変極点の数等に基いて検出することができる。更にまた、演算により求めた総蛋白値が異常に高かつたり、低い場合には、プリントアウトしないようにしたり、あるいは異常マークを付けてプリントアウトするようにすることもできる。また、上述した実施例では泳動像全体の濃度積分値を求めるようにしたが、例えば泳動像の中央を走査して得られる濃度積分値によつて総蛋白値を定量化することもできる。更に、上述した実施例では、支持体に塗布される多数の検体の一つを総蛋白値が既知の標準試料とし、他の検体の総蛋白値をその濃度積分値と、標準試料の総蛋白値およびその濃度積分値とに基いて定量化するようにしたが、アプリケーションにおける全ての塗布先の各々について、予じめ総蛋白値が既知の標準試料を用いて分析して濃度積分値と総蛋白値との関係を表わす検量線、あるいは変換係数を求めておき、これに基いて検体の濃度積分値から

総蛋白値を定量化することもできる。

(発明の効果)

以上述べたように、本発明によれば電気泳動装置によつて総蛋白値を定量化することができる。したがつて、従来のように総蛋白値を他の生化学分析装置によつて分析して電気泳動装置に入力するという面倒な操作が不要になると共に、生化学分析装置における負担も軽減できる。

4 図面の簡単な説明

第1図は本発明を実施する電気泳動装置におけるデンストメータの一例の要部の構成を示す図、

第2図は第1図に示す一次元アレイセンサの配置を示す図、

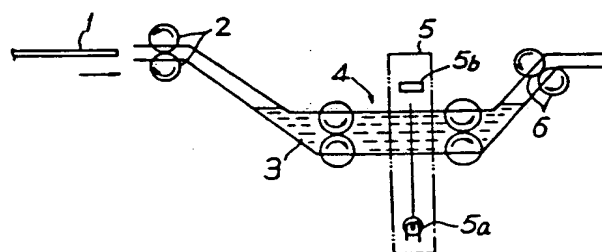
第3図はデータ処理回路の一例の構成を示すブロック図、

第4図、第5図、第6図および第7図は第3図に示すデータ処理回路におけるデータ処理を説明するための図である。

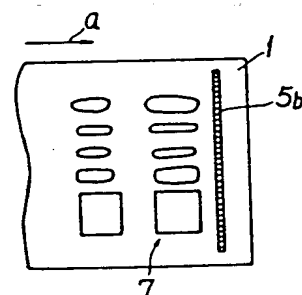
- | | |
|----------|-----------|
| 1 … 支持体 | 2 … 送りローラ |
| 3 … デカリン | 4 … 測光部 |

- | | |
|-----------------|-------------|
| 5 … 測光装置 | 5a … 光源 |
| 5b … 一次元アレイセンサ | |
| 6 … 排紙ローラ | 7 … 電気泳動像 |
| 11 … サンプルホールド回路 | |
| 12 … 対数増幅器 | 13 … A/D変換器 |
| 14 … CPU | 15 … メモリ |
| 16 … キーボード | 17 … CRT |
| 18 … フロッピーディスク | |
| 19 … プリンタ | |

第1図



第2図



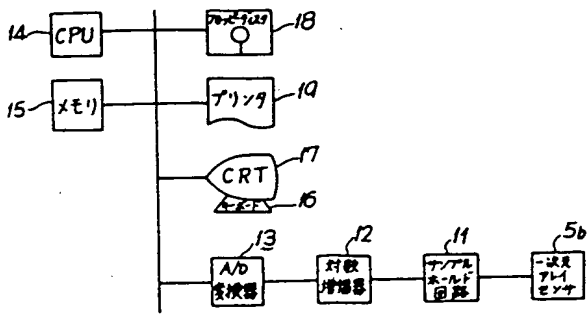
特許出願人 オリンパス光学工業株式会社

代理人弁理士 杉 村 暁 秀

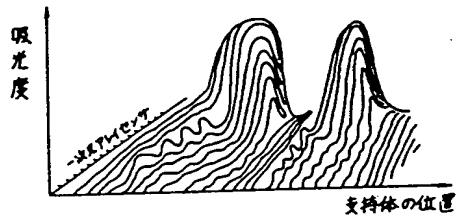
同 弁理士 杉 村 興 作



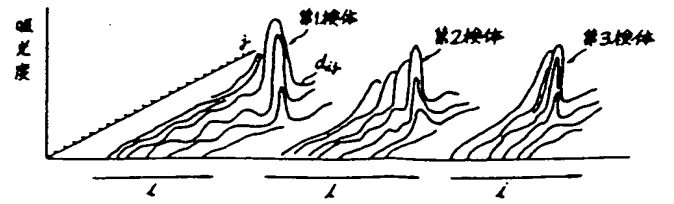
第 3 図



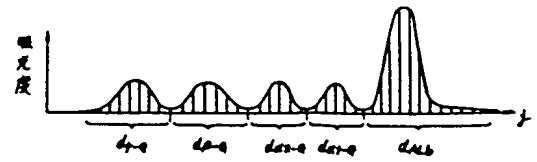
第 4 図



第 5 図



第 6 図



第 7 図

